

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平4-261664

(43)公開日 平成4年(1992)9月17日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 L 27/00		U 7038-4C		
A 6 1 K 47/36		B 7329-4C		
// C 0 8 L 5/08	L A X	6770-4 J		
101/00	L S Y	7167-4 J		

審査請求 未請求 請求項の数29(全 23 頁)

(21)出願番号	特願平3-167278	(71)出願人	591147731 バイオマトリックス インコーポレイテッド BIOMATRIX, INCORPORATED アメリカ合衆国, 07657 ニュージャージー州, リτζジフィールド, レールロード アベニュー 65
(22)出願日	平成3年(1991)7月8日	(72)発明者	エドワード レツシユシナー アメリカ合衆国, 07024 ニュージャージー州, クレスキル, デルマール アベニュー 101
(31)優先権主張番号	0 7 / 5 5 0 2 8 7	(74)代理人	弁理士 野河 信太郎
(32)優先日	1990年7月9日		
(33)優先権主張国	米国 (U S)		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 生体適合性粘弾性ゲルスラリー、その製法と用途

(57)【要約】 (修正有)

【目的】 生体適合性粘弾性ゲルスラリー、およびその製法の提供。

【構成】 第1相が水性媒体中に膨潤したポリマーゲルであり、第2相は、上記ゲル相が不均一に分散している液相であり、この2つの相からなる生体適合性の粘弾性ゲルスラリー。ゲルのポリマー成分は、天然のポリマーまたは合成ポリマーである。天然のポリマーは、多糖類、蛋白質及び核酸類からなる群から選択される。好ましくはヒアルロナン（ヒアルロン酸及びその生物学的受容な塩）またはその誘導体、例えば、ハイランから形成されるポリマーゲルを使用する。ゲルの形成は架橋反応または、溶媒に対して限定した親和性が有しないポリマーを溶媒中膨潤させる。

【効果】 癒着阻止剤、薬物放出の賦形剤等に使用できる。

BEST AVAILABLE COPY

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 生理的に受容な水性媒体に膨潤した生体適合性ゲル粒子からなる第1相が、同じ水性媒体中での生体適合ポリマー溶液からなる第2相中に均一に分布されてなる2相混合物からなる生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項2】 生体適合性ゲルが、架橋反応に適する反応性基を有する天然のポリマー及び合成ポリマーからなるグループから選択されたポリマーを化学的に架橋したポリマーである請求項1に記載の生体適合の粘弾性ゲルスラリー。

【請求項3】 生体適合性ゲルが、高度に生体適合性のポリマー1種と、他のポリマーの少なくとも1種との架橋した混合物からなる請求項1に記載の生体適合の粘弾性ゲルスラリー。

【請求項4】 生体適合の可溶性ポリマーが、水性媒体に可溶な天然のポリマー及び合成ポリマーからなるグループから選択される請求項1に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項5】 化学的に架橋したゲル生成ポリマーがヒアルロナンまたはハイランである請求項2に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項6】 高度に生体適合性のポリマーがヒアルロナンまたはハイランである請求項3に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項7】 生体適合性可溶ポリマーがヒアルロナンまたはハイランである請求項4に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項8】 生理的に受容な水性媒体が、アルカリ金属またはアルカリ土金属と、クロリド、サルフェート、ホスフェート、酸ホスフェート、ピカルボネート、アセテート、ラクテート、グリコラド、グルクロネート及びガラクトユロネート (galacturonate) 並びに中性有機物質からなるグループから選択されるアニオンとの塩の水溶液である請求項1に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項9】 中性有機物質が炭水化物または多価アルコールである請求項8に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項10】 生理的に受容な水性媒体中に膨潤した生体適合性ゲルのポリマー濃度が、0.01~30%である請求項1記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項11】 ポリマー溶液相のポリマー濃度が、0.01~70%である請求項1記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項12】 混合物中のポリマー溶液が、0.01~99.5%からなり、残りがゲル相である請求項1記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー。

【請求項13】 生理的に受容な水性媒体中に膨潤している生体適合ポリマーゲルに上記水性媒体中の生体適合

ポリマー溶液を混合し、ゲルを粒子に碎解することからなる請求項1記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリー生成法。

【請求項14】 ゲルとポリマー溶液とを混合する前に、ゲルを粒子への碎解が行われる請求項13に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの生成法。

【請求項15】 ゲルとポリマー溶液との混合後に、ゲルを粒子への碎解が行われる請求項13に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの生成法。

【請求項16】 生体適合ポリマーゲルが、生体適合ポリマーを、生理的に受容な水性媒体中で平衡になるまで膨潤したもので架橋して得られる請求項13に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの生成法。

【請求項17】 生体適合ポリマーゲルが、水に不溶な生体適合ポリマーを生理的に受容な水性媒体と平衡に膨潤させて得られる、請求項13に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの生成法。

【請求項18】 ポリマーゲルが、ゲルから生理的に受容な水性媒体の部分的除去による平衡膨潤に比し、膨潤度が低い請求項13に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの生成法。

【請求項19】 ゲルから生理的に受容な水性媒体の部分的除去が、予め平衡に膨潤させたゲルを圧縮及び/または遠心分離により行われる請求項18に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの生成法。

【請求項20】 ゲル相中のポリマー濃度を変化させることによる請求項1に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの流動特性及び拡散特性の調整法。

【請求項21】 ゲル相中のポリマー濃度が、予め平衡に膨潤させたゲルから物理的に受容な水性媒体の部分的除去により変化される請求項20に記載の方法。

【請求項22】 ポリマー溶液相中のポリマー濃度を変化させることによる請求項1記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの流動特性及び拡散特性の調整法。

【請求項23】 ゲル相対ポリマー溶液相の比を変化させることによる、請求項1記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーの流動特性及び拡散特性の調整法。

【請求項24】 請求項1に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーにより、影響される組織を分離することからなる、外科手術に起因する生体組織間の癒着生成の制御法。

【請求項25】 制御が好ましい生体のスペース中に請求項1に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーを入れて生体の表面に付着し細胞運動の制御法。

【請求項26】 請求項1に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーと薬物を混合し、薬物放出が好ましい生体の部位に生じて混合物を適用することからなる薬物放出の制御法。

【請求項27】 請求項1に記載の生体適合ゲルスラリーを、増加が好ましい生体の一部に移植することか

らなる軟質組織増加法。

【請求項28】 請求項1に記載の生体適合性粘弾性ゲルスラリーを、流動制御が好ましい生体スペース腔間に移植することからなる医療用目的のための粘性補給法。

【請求項29】 生体のスペースが関節腔である請求項28に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は、生体適合性粘弾性ポリマーゲルスラリー、それらの製法及びそれらの医療上の用途に関する。

【0002】

【従来の技術】 以後、「ポリマーゲル」という用語は、少くとも2つの成分、1つは溶媒、他はその溶媒に溶けずに、定常状態で流動性を示さないポリマーからなる系という定義に用いられる。ポリマーが不溶性であるのは、化学結合によるとみられる架橋、結晶子または多種の結合によって与えられるからなるものである。(J. D. Ferry, *Viscoelastic properties of polymers*, John Wiley & Sons, Inc., 1961年、391頁)。

溶媒成分は、通常、ゲルの大部分を占める。ゲルの中の溶媒が水である時、このようなゲルはヒドロゲルと呼ばれる。ヒドロゲルの最も広範囲な実用的用途としてはコラーゲンゲルの組織増大への利用である。このような場合には、ヒドロゲル自体は用いられないが、粘稠溶液が皮膚または皮下組織内に注入され、コラーゲンが直ちにゲルを生成し、かつ人工細胞間のマトリックスを生成する(T. R. Knapp等、*Injectable Collagen for Soft Tissue Augmentation*, Plastic and Reconstructive Surgery, 60巻、1977年、398~405頁)。

【0003】 ヒドロゲルは、そのほか、身体の外側、眼の表面にコンタクト角膜レンズとして用いられる(M. F. Refojo, *Ophthalmic Hydrogels*, in *Synthetic Biomedical Polymers*, 編集者M. Szycher及びW. J. Robinson, Technomic, 1980年、171頁)。

さらに、ヒドロゲルは、薬物の放出(B. E. McCarey等、*Current Eye Research*, 3巻、8項、1984年、977頁)、創傷用治療に(P. Y. Wan, *Infected Skin Wounds in Rodents*, Polymeric Materials and Artificial Organs, 編集者C. D. Gerelin, ACS Symposium Series 256, ACS, Washington, D. C., 1984年、181頁)に用いられることが示唆されている。ヒドロゲルのこの注目すべき応用は、その3つの主要な性質

(1) 大量の水を保持する特性、(2) 細胞間マトリックス内にスペースを作りそれを埋める特性、及び(3) 屈折光に対して明瞭な固体の形態を生成する特性に基づくものである。その他にヒドロゲルが薬剤放出用として細胞間マトリックスの増加に用いられる時、ヒドロゲル

は、細胞毒性及び免疫原性のない、かつ、炎症や異物反応の原因とならないものとして表わされる高度に生体適合性である極めて重要な性質も有する。

【0004】 最近、非常に生物学的相容性の良好な、ヒドロゲルが開発された。これらのゲルは、ビニルスルホンで架橋したヒアルロナン(ヒアルロン酸)(Balazs及びLeshchiner, 米国特許第4,605,691号)または他のポリマーまたは低分子量物質で架橋したヒアルロナンの混合物(Balazs及びLeshchiner, 米国特許第4,582,865号)をベースにしている。ハイランとして公知の、化学的に修飾したヒアルロナンから製造された類似のゲル類が、従来技術(Balazs等、米国特許第4,713,448号)にも記載されている。これらのゲル類は、薬物放出(Balazs及びLeshchiner, 米国特許第4,636,524号)及び医薬分野における他の目的に用いられる(E. A. Balazs及びE. A. Leshchiner (1989年)。ヒアルロナンその架橋誘導体—ハイライン—及びそれらの医薬的応用、[In: *Cellulosics Utilization: Research and Rewards in Cellulosics*, Proceedings of the Nisshinbo International Conference on Cellulosics Utilization in the Near Future. (Eds. Inagaki, H. and Phillips, G. O.) Elsevier, Applied Science, New York pp. 233-241.]。

【0005】

【課題を解決するための手段】 1つの観点では、この発明は、第1相が水性媒体中に膨潤したポリマーゲルであり、第2相は、上記ゲル相が不均一に分散している液相であり、この2つの相からなる生体適合性の粘弾性ゲルスラリーを提供する。他の観点では、この発明は、液相がポリマーの粘弾性の水性溶液である、生体適合性の粘弾性ゲルスラリーを提供する。

【0006】 さらに他の観点では、この発明は、ゲル相が不溶性のヒアルロナン及びその誘導体からなる生体適合性粘弾性ゲルスラリーを提供する。また他の観点では、この発明は、液相がヒアルロナン及びその誘導体の水性溶液からなる生体適合の粘弾性ゲルスラリーを提供する。さらにまた他の観点では、この発明はゲル及び液相の水性媒体が、生理的に受容な物質、代表的には水または食塩水である生体適合の粘弾性ゲルスラリーを提供する。

【0007】 この発明は、さらに、これらのゲルスラリーの製造法を提供する。最後に、この発明は、この生体適合ゲルスラリーの流動特性及び拡散特性を調整する方法を提供する。この発明は、非常に異常で、極めて有用な特性を有する生成物が2相ゲルスラリーの形態で、はなわち、好ましくは、粘弾性ポリマー溶液である第2相の中に、不均一に分配された膨潤したポリマーゲル粒子からなる第1相の2相ゲルスラリーの形態で製造されるという事実に基づいているものである。

【0008】この発明の生成物に適切な種々のポリマーゲルがある。ゲルのポリマー成分は、天然のポリマーまたは合成ポリマーである。天然のポリマーは、多糖類、蛋白質及び核酸類からなる群から選択される。この群の中で天然の多糖類の例としては、ヒアルロナン（ヒアルロン酸及びその生物学的受容な塩）、他のグリコサミノグリカン類、コンドロイチン硫酸塩、ケラチン硫酸塩、ヘパリン、ヘパラン硫酸塩、アルギン酸及びその生物学的に受容な塩、澱粉、アミロース等が挙げられる。天然の多糖類の合成的誘導体、例えばカルボメチルセルロース、種々のアルキルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシセルロース及び酸化澱粉がこの発明の目的のために用いられる。適切な蛋白質の例としては、コラーゲン、アルブミン、エラスチン、種々のグロブリン等、及びそれらの生物学的に受容な合成誘導体が挙げられる。

【0009】この発明による生成物のゲル成分の製造に用いられる合成ポリマーとしては、水溶性または水に膨潤するポリマーが挙げられ、例えばポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、それらのコポリマー、及びアクリル酸もしくはメタクリル酸ポリ（ヒドロキシエチル）エステル、ポリアクリルアミド等、ポリビニルアルコール、マレイン酸やフマル酸のコポリマー等のような誘導体がある。

【0010】基本的には、この発明に用いられるゲルのタイプには2つある。その1つは、共有結合性またはイオン性の架橋により不溶化されたポリマーからなるゲルである。可能な架橋反応は、数多くあって、当業者にとってはよく知られている。第2のタイプのゲルは、特定の溶媒、ヒドロゲルの場合には水、に対しては限定された親和性を有することにより特徴づけられるポリマーから作られ、そのためこれらのゲルは、溶媒に不溶であるが、ポリマーの性質、溶媒、温度、pH及び低分子量物質の存在によりある程度溶媒に膨潤する。

【0011】架橋ゲルの場合には、同種または異種の化合物に属する、数種の天然または合成のポリマーの混合物から製造される。この発明の記載において、これらのゲル類は「混合ゲル」と称される。混合ゲルの例としては、コラーゲン及びヒアルロンの混合物から製造されたゲル、カルボキシメチルセルロース及びビニルスルホンのような適切な試薬で架橋したアルギン酸等から製造されたゲルが挙げられる。

【0012】ゲル生成ポリマーの選択には、この発明による生成物の最終的なまたは意図した用途に依存する。いずれにしてもゲル生成ポリマーは、医薬領域にそれらの特定の適用をすることによりある程度の生体適合性を有する。ここで用いられる「生体適合性 (biocompatibility)」という用語は、最も広い意味で、この発明の生成物と接触しようとする生きた組織に好ましくない作用もしくは副作用が全くないかまたは最小限であることを意

味する。起こり得る副作用としては、毒性、炎症、免疫反応、異物反応、被包反応等が挙げられる。生体適合性の程度に関する要件は、特定の適用により実質的に変化し得る。

【0013】種々のゲル生成ポリマーは、種々の程度の生体適合性を提供しうる。もっとも生体適合性のポリマーは、グリコサミノグリカン類であり、特にヒアルロナン及びその誘導体であり、例えば化学的に修飾されたヒアルロナンである。ハイラン及びハイランを架橋したゲルの生成法は、米国特許第4,713,448号に詳細に記載されている。ヒアルロナンをベースとする単一及び混合ゲルは、米国特許第4,582,865号及び同第4,605,691号に記載されているハイラン及びハイランゲルの数種の性質及び生体適合性は、Balazs及びLeshchinerの論文に記載されている（1989年）。ヒアルロナン、その架橋誘導体—ハイラン—及びその医薬的応用、[In: Cellulosics Utilization: Research and Rewards in Cellulosics. Proceedings of the Nisshinbo International Conference on Cellulosics Utilization in the Near Future. (Eds. Inagaki, H. and Phillips, G. O.) Elsevier, Applied Science, New York pp. 233-241.] 雄鶏のとさか、臍帯等の動物組織から抽出されるかまたは適切な細菌を培養することによる微生物学的に産生されるか、いずれの由来によるヒアルロナンでもこの発明の目的に用いることができる。ヒアルロナンの多数の産生方法が従来の技術に記載されており、当業者には公知である。

【0014】蛋白質、澱粉及びセルロース誘導体に類似の他の天然ポリマー類は、著しい免疫抗原性、緩和な炎症反応等で示されるように生体適合性がやや近い。それにも拘わらず、これらポリマーから作られるゲルは、高度な生体適合性が必須ではない二・三の医学適用にも用いられる。非常に高度な生体適合性を有するポリマーと他のやや低い生体適合性の特徴を有するポリマーと組合せることにより最終ゲルの生体適合性を増加することができることを特に強調すべきである。ヒアルロナン及びその誘導体は、その例外的にすぐれた生体適合性の故でこの目的のための最もよい候補者である。

【0015】この発明による粘弾性ゲルスラリー中の第2相は、流動性が広い範囲内に変動し得る1種以上のポリマーの粘弾性溶液が用いられる。ゲル及び溶液相が同じ溶媒を用いることは明らかである。ヒドロゲルの場合には、これは塩または他の低分子量物質の水溶液である。液相用のポリマー（類）の選択は、ポリマーの生体適合性、ゲル相との適合性、生体内代謝経路、ポリマー溶液の流動性等からいくつかの条件により支配される。この発明による生成物に用いられる最適なポリマー類の中から、液相用には、ヒアルロナン及びその可溶性誘導体、例えばハイラン並びに他のグリコサミノグリカン類

が挙げられる。ある程度の生体適合性を有する他の水溶性ポリマー類の具体例としては、種々の分子量のポリ(エチレンオキシド類)、エチレンオキシド及びプロピレンオキシドのコポリマー類、カルボメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロースのようなセルロース誘導体、ポリアクリルアミド、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸及びそのコポリマー等である。

【0016】上記のように、混合ゲルスラリーのゲル及び溶液相の溶媒成分は同一であり、生理的に受容な水性媒体である。後者は生きた組織と接触する時、溶媒自身が、好ましくない作用もしくは副作用、例えば、組織の膨潤または収縮、炎症、中毒反応等の原因とはならないことを意味する。生理的に受容な水性触媒は、通常、アルカリもしくはアルカリ土類金属の塩化物、硫酸塩、リン酸塩または重炭酸塩のような無機塩類、例えば、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム、塩化マグネシウム、及び対応するカリウム、カルシウム塩；乳酸ナトリウム、グルクロン酸ナトリウムのような有機酸の塩；またはグルコース、マンノース、多価アルコールのような中性有機物質、例えばグリセリン、マンニトール等群から群選択される1つ以上の低分子量物質の水溶液である。低分子量物質は、二重の役割を果し、すなわち最終粘弾性ゲルスラリーに必要な浸透圧及びイオン環境(pHを含む)を提供する。しかしながら、これらのポリマーがイオン性である時、粘弾性ゲルスラリーのゲル及び液相のポリマー成分は、それ自身浸透圧及び特にpHに寄与している。すなわち、溶媒の浸透圧、pH及びイオン含量は、これらのことを考慮して選択されるべきである。容量オスモル濃度の正常な生理的範囲は、280~320ミリオスモル(ミリ浸透圧モル)であり、pHのそれは、6.8~7.2である。この発明による生体適合性粘弾性ゲルスラリーの容量オスモル濃度は、特定の末端に適用することにより広い限界で変化する。溶媒が少しの緩衝能も有しない時、特にpHについて同じことが云える。例えば、0.15M塩化ナトリウム水溶液である生理食塩水のpHは、5.4と低い。すなわち、この発明による生体適合性粘弾性ゲルスラリーの容量オスモル濃度は、50~500ミリオスモルの範囲で、好ましくは150~400ミリオスモルであり、またpHは、5.0~8.0の範囲で好ましくは5.5~7.5及びさらに好ましくは6.5~7.3である。

【0017】生体適合性に加えて、この発明によるゲルスラリーの他の重要な特性は、種々の医薬分野における有用性を測定して、その流動性を組合せたものである。これらの性質は、粘度とその剪断速度への依存性、動的モードでの弾性と粘性の比、緩和性及びさらに詳細に以下に述べる他の性質を含む。一般に、この発明による生成物の流動性は、本質的に2つの方法により非常に広い限界にコントロールされる。この第一方法によれば、粘

弾性ゲルスラリーを生成する2相の各々の流動性が、最終生成物に対して好ましい流動性を与えるような方法でコントロールされる。ゲルスラリーの流動性をコントロールする第2の方法は、2相に対して適切な比の選択からなる。しかし、これらのパラメーター、例えば2相の流動性及びそれらの比が、この発明の生成物の他の重要な性質を決定するために流動性をコントロールする最終の方法は、それぞれ特定の場合に特に選択されるべきである。

【0018】この発明による生成物に用いられる適切なゲルは、硬い脆いゲルから非常に軟い、変形しうる液体様ゲルまで変化する非常に多種の流動体を示し得る。通常、架橋反応なしで生成されたゲル、例えば通常のゼラチンゲルに対して、ゲルの硬度及び弾性は、ポリマー濃度の増加につれて増加する。架橋したゲルの流動性は、通常架橋密度、ゲル中のポリマー濃度、架橋ポリマーが膨潤している溶媒の組成など、いくつかのパラメーターの関数である。ヒアルロナン及びハイランに基づく流動性の異なるゲルは、上記米国特許第4,605,691号、同第4,582,865号及び同第4,713,448号に記載されている。これらの特許によれば、ゲルの流動性は、主に原料の反応混合物中のポリマー濃度、及びポリマーと架橋剤であるビニルスルホンとの比を変化させることによりコントロールできる。これらの2つのパラメーターが、生じたゲルの平衡膨張比を決定し、従って最終生成物中のポリマー濃度及びその流動性を決定する。

【0019】我々はここで、ゲルの中のポリマー濃度及びその流動性をコントロールする他の方法を見出した。我々は、先に膨張させて平衡を保っているゲルから機械的圧縮により溶媒の実質量を除去しうることを見出した。圧縮は、溶媒に透過性で、ゲルに不透過性のふるいをつけた密閉容器中で、ゲルに圧力をかけることにより行われる。圧力は、適切な装置により直接的に、またはガス層、通常は空気によりゲルに加えられる。ゲル圧縮の他の方法としては、上記の半透過性膜を底部に有する容器中でゲルに遠心力を加えて行われる。ゲル圧縮に適切な装置は、実施例5に記載されている。

【0020】ポリマーゲルスラリーの圧縮率は、ゲルの化学的性質、ゲル粒子の大きさ、ポリマー濃度及びゲルスラリー中、遊離溶媒の存在など多数の因子に依存する。図1のデータは、ハンランスラリー中の遊離食塩水の存在が圧縮率に及ぼす効果を示す。一般に、ゲルスラリーが圧縮される時、スラリー中に存在する遊離溶媒が急速に除去され、ついでゲル粒子から溶媒が非常にゆっくり除去される。ゲルスラリーから溶媒の除去の速度は、圧力、温度、装置の形状、及びゲル中の原料ポリマー濃度のようなパラメーターによる。通常、圧力、温度、及び炉過面積の増加及びゲル粒子サイズ及び初期のポリマー濃度の減少は、溶媒の除去速度を増すことにな

る。

【0021】ゲルスラリーから溶媒の部分的な除去は、スラリーをより一層凝集性にし、実質的にスラリーの流動性を変化させる。この変化の大きさは、強く圧力の程度に依存し、以下にスラリーの初期の容積対圧縮されたスラリーの容積の比として定義される。到達できる圧縮度、例えばゲルスラリーの圧縮率は、種々のゲルにより異なる。例えば食塩水中のハイランゲルスラリーでは、20及びそれ以上の圧縮度が容易に得られる。

【0022】圧縮したゲルを同じ溶媒により原ポリマーの濃度まで再構成することは、もとのゲルと同一のゲルを生成するという事を見出した。これは、流動性の測定及び遠心分離によるゲルから溶媒除去の速度により証明された。この透明による粘弾性混合物のゲル相中のポリマー濃度は、混合物の好ましい性質に依存し、混合物の最終用途により決定される。しかしながら、一般に、ゲル相中のポリマー濃度は、0.01~30%が、好ましくは0.05~20%である。膨潤溶媒が生理食塩水(0.15M水性塩化ナトリウム)である時、ハイラン及び純粋のヒアルロナンまたは混合ゲルの場合に、ゲル中のポリマー濃度は、好ましくは0.1~10%の範囲で、さらに好ましくは0.15~5%である。

【0023】上記のように、この発明による粘弾性ゲルスラリーの第2相のためにポリマー類かまたは可溶性ポリマーかの選択は、この生成物の最終用途により決定される多くの考慮に支配される。可溶性ポリマー相中のポリマー濃度は、最終混合物の所望の性質及びゲル相の性質による広い限度内を変化する。粘弾性ゲルスラリーの流動性が第一の関係であるなら、可溶性ポリマーの濃度は、ポリマーまたはポリマー類の化学的性質、及びその分子量を考慮して選択される。一般に、可溶性相中のポリマー濃度は、0.01~70%、好ましくは、0.02~40%であってよい。ハイランまたはヒアルロナンが可溶性ポリマー類として用いられる時、それらの濃度は0.01~10%で好ましくは0.02~5%である。コンドロイチン硫酸またはデルマタン硫酸等のような他のグリコサミン類が可溶性ポリマー類として用いられる場合に、それらは非常に低分子量であるためにそれらの濃度は実質的に高くなる。

【0024】この発明による粘弾性ゲルスラリーを生成する2つの相は攪拌器またはミキサーのような通常の手段で混合することができる。混合は、ポリマー溶液中でゲル相の均一な分布を得るために十分に長時間行なうべきである。上記のように、ゲル相は、網目または開口部のあるプレートを紹介して、押圧するか、または適当な攪拌機で高速で攪拌することによる通常の手段によりゲルを碎解して得られたスラリーであってもよい。または、粘弾性混合ゲルスラリーは、ゲルの大きな片とポリマー溶液を混合し、続いて、上記の常法のいずれかにより混合物を碎解して粘弾性スラリーを生成させて製造され

る。この発明による混合ゲルスラリーの第1の製造法が用いられる時、ゲルスラリー相は平衡のために膨潤したゲルから作られ、この場合ゲル粒子間に遊離溶媒が全くないか、ゲル粒子間の少しの遊離溶媒がある。後者の場合に、この遊離溶媒は、第2相として用いられるポリマー溶液を希釈することになる。混合物においてゲル相として用いられるゲルスラリーの第3相は、上記で論じた性質を持つ圧縮されたゲルである。圧縮ゲルがポリマー溶液と混合される場合には、溶液相からの溶媒はゲル相の中に入り、平衡になるようにゲルをさらに膨潤させ、この時この成分及びそれらの混合物の熱力学は、この平衡が起こるようにする。

【0025】この発明による粘弾性混合ゲルスラリーの組成は、広い範囲内を変化する。混合物中のポリマー溶液は、0.1~99.5%、好ましくは0.5~99%、さらに好ましくは1~95%からなり、残りはゲル相である。混合物の適切な組成の選択は、2つの成分の性質及び組成に依存し、スラリーの所望の性質及び最終用途により支配される。

【0026】この発明による粘弾性ゲル混合物は、2つの主成分、すなわちポリマーゲルスラリー及びポリマー溶液に加えて、種々の生理活性物質、医薬品、微結晶性セルロース、金属粉末、不溶性無機塩、染料、表面活性物質、油、粘性変更因子、安定剤等からなる多数の他の成分を含有してもよく、全ては、生成物の最終用途による。

【0027】この発明による粘弾性ゲルスラリーは、本質的には連続ポリマー溶液のマトリックスであって、その中に規則的なまたは不規則的な形をした分離している粘弾性ゲル粒子が不均一に分布し、液体のように流動的に挙動する。換言すれば、それらは、粘性、弾性、及び可塑性を示す。スラリーの組成のパラメーター、即ちゲルと溶液相中のポリマー濃度、及び2相間の比を変化させることにより、定常流における粘性、動的モードにおける弾性、緩和性、粘性挙動と弾性挙動の比等のようなスラリーの流動性を有利にコントロールできる。

【0028】この発明による粘弾性ゲルスラリーの組成パラメーターにより強力に影響される他の性質のグループは、種々の物質がスラリーの中への拡散及びスラリーから周辺環境への拡散に関する。この拡散方法は、以下に詳細に記載するように、組織と放出薬物との間に癒着の生成を阻止するような、医薬領域において、粘弾性ゲルスラリーの特定の適用に非常に重要である。

【0029】手術の後で、組織間の癒着生成は、最も一般的な、極めて好ましくない合併症の1つである。癒着生成の機構は、通常フィブリン塊生成を含み、それが結局は正常には離れているべき異なった2つの組織を結合する癒着組織に変わる。癒着は、不安や苦痛のような種々の好ましくない徴候の原因となり、ある場合には、生命を脅かす状態になる。癒着の生成は、非常に度々癒着

を除去するために別の手術を要するが、再手術後は癒着生成に対して隔離されない。

【0030】1つの癒着除去法は、組織間のスペースにフィブリノーゲンの拡散を阻害し、スペース間に連続したフィブリン塊の生成を除去する物質によって、手術中に影響を受ける組織類を分離しておくことである。生体適合性粘弾性ゲルスラリーが、癒着阻止剤として用いられる。しかし、普通のゲルスラリーの場合には、スラリーが体液と混合し、ゲル粒子が互いに分離する時、低分子量及び高分子量物質の拡散が、特にゲル粒子間で非常に容易に起こる。一方、この発明による粘弾性混合ゲルスラリーを体内に移植すると、ゲル粒子間にあるポリマー溶液相は連続して拡散を制限し、体液による希釈後も癒着を阻止する。さらに、この効果は、ポリマー溶液相のポリマー濃度を増加してなお一層強められる。

【0031】この発明による粘弾性混合ゲルスラリーが薬物放出の賦形剤として用いられる時も同様である。スラリーの1つの相または2つの相共に、生理活性を有する薬物または他の薬物を充填することができ、この薬物は体内にこの粘弾性のスラリーの移植後ゆっくりとスラリーから拡散し、その拡散速度は、スラリーの組成パラメーターを変化することにより有利にコントロールできる。

【0032】この発明による粘弾性混合ゲルスラリーの2つの成分は、生細胞の挙動に影響を与え、媒体を介して、その生細胞の運動を遅くし、種々の表面に癒着を防止する。これらの効果の表示度は、混合物の2つの成分の組成及びその比、表面の性質及び粘弾性ゲルスラリーとの相互作用、細胞の型等の因子に強く依存する。しかし、いずれの場合にも粘弾性ゲルスラリーのこの性質は、細胞運動及び癒着の制御がガン増殖及び転移のような場合に第1に重要である疾患の医薬品による治療に用いられる。

【0033】この発明による生体適合性の粘弾性ゲルスラリーの上記の2つの適用に加えて、別の可能な適用は、軟質組織の増殖を含み、眼科、耳鼻咽喉科、及び創傷処置のような他の領域、骨関節炎の治療の整形外科等に外科用粘着性成形具としての材料に用いられる。これら全ての適用において、混合ゲルスラリーの次の基本的な性質が利用される：生体適合性、コントロールされた粘着性及び拡散性、移植部位における容易にコントロールされた滞留時間、及び例えば直径の小さな針を通しての注射による容易な処置等である。

【0034】次の方法は、この発明により得られた生成物の特性付けに利用される。溶液中のハイランまたはヒアルロナンの濃度は、カルパゾール自動化法を用いて、ヘキサロン酸分析により測定される（E. A. Balazs等、Anal. Biochem. 12巻、547～558頁、1965年）。ゲル相のハイランまたはヒアルロナンの濃度は、米国特許第4, 582, 865号の実施例1

に記載のように修飾したヘキサロン酸分析により測定された。

【0035】流動性は、制御された剪断速度を伴うコンピュータ付血流計であり、次の三つのモード、粘度測定、振動、緩和を操作できるBohlin流動計システムで測定された。2段高低の剪断速度における剪断粘性の測定は、粘弾性ゲルスラリーの粘性及び生成物の多くの適用に重要な偽塑性（異なる剪断速度における粘性の比を特性付けるものである。種々の振動数における粘弾性の測定は、弾性（貯蔵弾性率 $G'$ ）と粘性（損失弾性率 $G''$ ）とのバランスを特性化した。緩和特性は、時間による剪断弾性率の変化として測定され、かつ異なる緩和時間における2つのモジュラス値の比で表わされた。

【0036】この発明による生成物の特性化に用いられる他の方法は、この発明の好ましい具体例を説明する次の実施例に記載されるが、この範囲に限定されない。

#### 実施例1

この実施例は、混合粘弾性ゲルスラリーの流動性におけるハイランゲル対ハイラン溶液比の効果を示す。

【0037】ハイラン繊維を、米国特許第4, 713, 448号の実施例1に記載のホルムアルデヒドを用いて雄鶏のとさかから製造した。これらの繊維から0.15M食塩水溶液中のハイラン溶液が1.13%の濃度で製造された。ソフトハイランゲルも上記特許の実施例11に記載の方法によりハイラン繊維をビニルスルホンで架橋して製造した。ゲル中のハイラン濃度は0.27%であった。ゲル中の水溶性溶媒は、0.15M塩化ナトリウム水溶液であった。ゲルは、約1mmの開口部を有する磁製プレートに押圧して、碎解された。ハイラン溶液とゲルを種々の比で攪拌棒により約10分間攪拌することによりすぐれた混合物ができる。種々の混合物は約24時間保持され、混合物の流動性が測定された。その結果を表1（下記に記載）に示す。表からわかるように、ハイラン溶液とハイランゲルの混合物から製造される粘弾性ゲルスラリーの流動性は、スラリーの組成に大いに依存する。これら流動性のいくらかは、より高度な剪断速度（ $4.65\text{ s}^{-1}$ ）における剪断速度に近似し、より高い振動数（5Hz）における貯蔵弾性率及び損失弾性率（ $G'$ と $G''$ ）は、スラリー中の全ポリマー含有量に比例するようにみえるが、他の性質（より低い剪断速度における剪断粘性）及びより近い振動数0.01Hzにおける貯蔵弾性率 $G'$ ）は、粘弾性スラリー中の可溶性ポリマー及び不溶性ポリマーの濃度が略等しい時、最低値である。貯蔵弾性率と損失弾性率（ $G'$ 及び $G''$ ）が互いに等しい場合の振動数は、材料の弾性と粘性の比を特性付け、振動数が低くなればなる程、粘性はより強く表わされる。表からわかるように、粘弾性ゲルスラリーの弾性は、混合物中のゲル含量が増すことにより増加する。

【0038】

【表1】

表1 実施例1の混合物の流動性

混合物中の成分 含量 重量%		混合物中のポリマー 含量 mg/ml		剪断速度 Pa.sに於ける 剪断粘度( $\eta$ )		凝固性 N 0.015 N 4.6	動的特性 (貯蔵弾性率 $G'$ 損失弾性率 $G''$ 交叉振動数 $G' = G''$ のとき $W$ )				
ハイラン 溶 液	ハイラン ゲ ル	可溶性	不溶性	0.015 s <sup>-1</sup>	4.6 s <sup>-1</sup>		W=0.01Hz		W=5.0Hz		W*
							G', Pa	G'', Pa	G', Pa	G'', Pa	Hz
--	100	--	2.70	131	2.09	42.4	13.40	3.22	23.80	4.07	--
25	75	2.83	2.03	114	3.65	31.2	3.43	3.47	30.91	9.47	0.011
50	50	5.65	1.25	200	8.72	22.9	5.20	6.27	61.62	18.7	0.020
75	25	8.48	0.68	355	14.9	23.8	8.25	11.10	109.03	30.3	0.029
100	--	11.3	--	553	24.9	22.2	13.30	19.70	189.25	48.3	0.035

## 【0039】実施例2

この実施例は、2つの相の流動性の効果及び生じた粘弾性ハイラン混合ゲルスラリーの流動学におけるそれら2相の比を示す。ハイラン繊維を、米国特許第4,713,448号に記載の一般法により雄鶏のとさかから製造した。0.15M塩化ナトリウム水性溶媒中1.04%ハイラン溶液は、実施例1に用いた溶液に比してやや高い粘性の繊維から製造された。

【0040】軟質ハイランゲルを、米国特許第4,713,448号の実施例11に概説した一般法によりハイラン繊維から製造した。このゲルは、実施例1で用いたゲルに比し、ポリマー濃度が高くその結果異なる流動性を有する。ハイラン溶液とハイランゲルを実施例1に記載のようにゲル：溶液=1：1, 7：3の比に混合した。きめの滑らかな透明な混合物が得られた。混合物及\*30

\*び原料の流動性を表2に示す。実施例1と本実施例のデータの比較は、ゲルと、それよりポリマー濃度が高いかまたは高分子量のために、より流動性である液体成分とを用いることにより、粘弾性ゲルスラリーに好ましい流動性が得られた。

【0041】前記実施例のように、弾性は、この実施例に示されるスラリー中のゲルフракションの増加により増大し、その増大は、ゲルフракションの増加による交叉振動数の減少によるだけでなく、より遅い弾性率緩和によっても増大する。換言すれば弾性率緩和が測定される時より高い弾性率の保持によって弾性が増大されることは明らかである。

【0042】

【表2】

表2 実施例2の混合物の流動性

混合物中の成分 含量 重量%		混合物中のポリマー 含量 mg/ml		剪断速度 Pa.sに於ける 剪断粘度( $\eta$ )		凝固性 N 0.015 N 14.7	動的 特性			緩和 特性		
ハイラン 溶 液	ハイラン ゲ ル	可溶性	不溶性	0.015 s <sup>-1</sup>	4.6 s <sup>-1</sup>		振動数5Hz, Paの弾性率	交叉 振動数	0.005s, 5.6s, Paの弾性率	5.6s, Paの弾性率におけるG 5.6	5.6s, Paの弾性率におけるG 0.06%	5.6s, Paの弾性率におけるG 0.06%
							G'	G''	W* Hz	G'	G''	G
--	100	--	4.7	1150	2.86	402	104	19.8	--	99.4	74.3	74.7
30	70	2.1	3.3	834	2.55	327	112	14.3	0.0005	111.0	73.7	66.4
50	50	5.2	2.35	852	4.29	194	108	14.9	0.0011	80.9	42.9	53.6
100	--	10.4	--	1027	5.71	180	180	25.5	0.004	146.0	71.8	49.2

## 【0043】実施例3

この実施例は、ジエポキシブタンで架橋したハイランゲルを含む粘弾性ゲルスラリーの性質を説明する。ハイラン繊維を、米国特許第4,713,448号に記載の一般法により雄鶏のとさかから製造した。0.15M塩化ナトリウム水溶液中のハイラン溶液は、0.92%濃度の繊維から製造した。ハイランゲルを、T. C. Laure 50

ntによる論文 "Cross-Linked Gels of Hyaluronic Acid", Acta Chem. Scand. 1964年, 18巻 (1), 274~275頁に記載の一般法によりジエポキシブタンで架橋した繊維から製造した。次の通りである：風乾した繊維0.80g (乾燥重量0.56g) を蒸留水5.8ccと混合し、時々攪拌しながら一夜放置した。得られた溶液に2N水酸化ナトリウム0.8cc



を加え、均一な生成物を生じるまで攪拌した。

【0044】1, 2, 3, 4-ジエポキシブタン (97 %、Aldrich Chemical Co., Inc.) 0.56 g をこの溶液に加え、ついで水素化ホウ素ナトリウム (Aldrich Chemical Co., Inc.) 0.008 g を加え、混合物が均一になるまで攪拌し、チューブに反応混合物を入れ、50 °C の水浴中に2時間保つ。0.15 M 塩化ナトリウム (生理食塩水) 400 cc の中に1 N 塩酸1.5 cc を入れて作ったゲルを混合物に加えて、アルカリで中和した。ゲルはこの溶液の中で1夜保持され、ついで溶液を除いて2回以上食塩水で洗浄した。ついで、得られた脆化ゲルは約1 mm の開口部をもつ磁製プレートに押圧することによりゲルスラリーに碎解された。

【0045】ゲル中のポリマー含有量は、生成物の少量 (約1 g) を塩分を除去するために水に対して透析し、\*

表3 実施例3の混合物の流動性

混合物中の成分 含量 重量%		混合物中のポリマー 含量 mg/ml		剪断速度 Pa.s における 剪断粘度 (n)		流動特性				緩和特性		
ハイラン 溶 液	ハイラン ゲ ル	可溶性	不溶性	0.015 s <sup>-1</sup>	4.6 s <sup>-1</sup>	損失弾性率 G''	貯蔵弾性率 G'	動的粘弾性率 G*	交叉 振動数 W Hz	0.06 s, 5.6 s, Pa における Pa における G	弾性率 G	損失率 G
0	100	--	8.50	1080	1.08	1000	328	89	n.f.	325	241	74
20	70	2.76	5.95	1198	0.426	2812	192	62	n.f.	219	136	62
50	50	4.60	4.25	2265	4.23	535	208	65	n.f.	234	102	44
100	--	8.20	--	361	2.44	105	87.5	20	0.005	56	15	27

#### 【0047】実施例4

この実施例は、ハイランゲルスラリーと種々のポリマー溶液との粘弾性混合物の流動性を説明する。実施例3に記載のようにハイラン繊維を製造し、ビニルスルホンで架橋したハイランゲルの製造に用いた。ゲルと下記のポリマー溶液との混合物を製造した：0.15 M 食塩水中ポリビニルピロリドン (分子量360, 000, Aldrich Chemical Co., Inc.) の5重量%溶液；0.15 M 食塩水中ポリオックス<sup>®</sup>凝固剤 (分子量5, 000, 000, Union Carbide Corp) の5重量%溶液。混合物の流動性を表4に示す。これらのデータは、明らかに粘弾性ゲルスラリーの流動学的挙動における可溶性ポリマー相の性質の効果を示す。3つの試験用ポリ

\*ついでゲルを凍結乾燥し、試料の一定重量が得られるまで、50 °C、約1 mmHg の減圧下、オープン中で乾燥することにより測定された。ポリマー濃度の平均実験値は0.85%であった。このゲルと上記のハイラン溶液との混合物を2種、異なった成分比で製造し、これら混合物の流動性を測定した。その結果を3表に示す。流動学的データは、ゲルの性質が混合物の組成のある性質に依存することを示す。すなわち、ジエポキシブタンと架橋したゲルに基づくこの実施例の混合物について、緩和性挙動は上記実施例でみられるのと同であるが、1:1の混合物の粘度は、個々の成分の粘度より実質的に高く、剪断粘度に強い相乗作用を示す。

【0046】

【表3】

マーには、混合物の流動性に次のような類似性がある：緩和性測定における剪断粘度、損失弾性率及び弾性率保持は、混合物中のハイランゲル量の増加により増加するが、交叉振動数は、低い方へシフトする。換言すれば、粘弾性の全複合物は、ポリマー溶液にゲルの添加により非常に増大する。同時に、この増大の程度は、ポリマーの化学的性質に非常に依存する。例えば、高分子ポリオックス<sup>®</sup>凝固剤は、ハイランゲルと3:7の比で混合する時、相乗作用を示し、純粋なゲルまたはポリマー溶液の貯蔵弾性率をはるかに超えた値を示す。

【0048】

【表4】

表4 実施例4の混合物の流動性

混合物中の成分 含量 重量%	混合物中のポリマー 含量 mg/ml	可溶性	不溶性	剪断速度 Pa.s @ 5000 剪断粘度 (n)		緩和特性			動的 特性			緩和 特性		
				0.015 s <sup>-1</sup>	4.8 s <sup>-1</sup>	0.015 Pa.s @ 5000 G'	0.015 Pa.s @ 5000 G''	0.015 Pa.s @ 5000 G'''	5Hz, Pa.s @ 5000 W <sup>*</sup> Hz	5Hz, Pa.s @ 5000 G'	5Hz, Pa.s @ 5000 G''	0.06s, Pa.s @ 5000 G'	0.06s, Pa.s @ 5000 G''	0.06s, Pa.s @ 5000 G'''
--	100	--	5.6	94.3	956	99	102	8.3	n.f.	94	61	65		
100	--	60.0	--	4.7	0.08	59	0.41	1.44	0.20	46	25	54		
50	50	25.0	2.8	81	0.46	176	10.8	9.2	n.f.	6.2	3.3	53		
30	70	15.0	3.92	95.7	0.92	104	28.5	15.4	n.f.	17.8	10.0	56		
100	--	50.0	--	3.5	0.09	39	1.3	1.9	5.2	1.8	0.08	4.4		
50	50	25.0	2.8	181	0.075	2413	22.4	6.5	n.f.	18.9	15.5	82		
30	70	15.0	3.92	317	0.09	3522	42.5	4.0	n.f.	38.0	33.6	88		
100	--	10	--	12.3	0.52	24	7.4	3.1	0.15	2.01	0.46	23		
50	50	5	2.8	229	1.2	191	59.0	14.8	n.f.	46	15.9	35		
30	70	3	3.92	411	2.0	205	877	209	n.f.	361	353	98		

## 【0049】実施例5

この実施例は、ハイランゲルの流動性に対するゲル圧縮の効果を示す。ハイラン繊維を、上記と同様に製造し、上記実施例2に記載のようにビニルスルホンで架橋したハイランゲルの製造に用いた。ゲル中のハイラン濃度は、0.53%であった。上部取付板及び下部取付板を装備した円筒形の容器からなる圧縮装置が、その上部取付板にはガス導入口及びマノメーターを備え、及び下部取付板には、セルロース系炉過材 (Micro-Media R M 20, Ertel Engineering Co.) を載置したステンレス鋼グリッドで内側から張った円形の開口部を備え、内容量の約半分である、約150mlのゲルで装填した。\*

表5 圧縮後のハイランゲルの流動性の比較

ゲル試料 濃度	5 Hz における動的 特性			緩和特性		
	G', Pa	G'', Pa	$\frac{G'}{G''}$	0.06s, Pa における G	5.6s, Pa における G	G 5.6 G 0.06s
出発ゲル 0.53%	114	37.2	3.06	83.6	44.1	52.7
圧縮ゲル 0.59%	311	36.7	8.47	297	263	88.5

【0052】すなわち、ゲルが膨潤している溶媒を圧力下、ゲルを圧縮することにより部分的に溶媒を除去して達成される比較的小さな濃度増加でさえ、ゲルの弾性的実質的な増大の原因となる。

## 実施例6

この実施例は、ハイランゲルの2つの試料の圧縮速度を 50

\* 窒素ガスをタンクから容器の中へ供給し、ゲルの入った上記装置の圧力を25 psiに保持した。圧力をかけると、透明な食塩溶液が装置から始まる。食塩水の約20mlを44時間内に回収し、ゲル圧縮工程はこの時点で終了した。

【0050】圧縮したゲル中のポリマー濃度は、0.59%であると測定され、これは、溶媒損失量 (0.61%) に基づいて計算した値とよく一致する。出発のゲル及び圧縮ゲルの流動性は次表に示される。

## 【0051】

## 【表5】

示す。

【0053】ハイラン繊維は、実施例2に従って製造され、ビニルスルホンで架橋したハイランゲルの製造に用いられる。ゲル中のハイラン濃度は、0.51%であった。ゲルは、上記実施例中の記載の装置で窒素ガスをを用いて圧縮した。食塩水除去の速度を図1に示す。同じ原

料ゲルの一部を食塩水1:5で希釈し（希釈したゲル中のポリマー濃度が0.10%）、希釈したゲルを原ゲルの圧縮と同様の方法で圧縮した。このゲルの食塩水の速度も図1に示す。

【0054】溶媒の大部分（この場合は食塩水）を平衡に膨潤したゲルに加える時、この溶媒は圧縮工程で急速に除去され、従って溶媒除去速度は未希釈ゲルのそれと実質的に同一になる。すなわち、圧縮工程では、溶媒なし、またはゲル相粒子間の分離相として存在する溶媒と、ゲル相中のポリマーを水和する溶媒とを区別できる。

#### 【0055】実施例7

この実施例は、高度に膨潤したハイランゲルの流動性に及ぼす効果を示す。ハイラン繊維を実施例1に従って製造し、この繊維を次の方法に従ってビニルスルホンで架橋することにより高度に膨潤したハイランゲルの製造に用いられる：乾燥した繊維1.29gを水15mlと混合し、溶解するために一夜放置した。2N水酸化ナトリウム

表6 圧縮後のハイランゲルの流動性の比較

5 Hz における動的特性				緩和特性		
ゲル試料 濃度	$G'$ , Pa	$G''$ , Pa	$\frac{G'}{G''}$	0.06s, Pa における G	5.6s, Pa における G	$\frac{G_{5.6}}{G_{0.06}}$
出発試料 0.05%	8.2	0.4	20.5	5.2	1.6	31

圧縮試料 0.16%	314	8.9	35.3	33.6	220	95
------------	-----	-----	------	------	-----	----

#### 【0057】実施例8

この実施例は、流動性に対するハイランゲル濃度の効果を示す。ハイラン繊維は、実施例2に記載のように製造し、ハイランゲルを得るのに用いられた。ゲル中のハイラン濃度は0.50%であった。濃度の異なる数種のゲル試料をこの出発物質から製造した。試料の1つは、

\*ウム2. 2mlをハイラン溶液に加え、この混合物を粘稠でない均一な溶液が得られるまで約15分間手動で攪拌する。ビニルスルホン0.135ml (Aldrich Chemical 社製)を水3.3mlに希釈し、アルカリ性ハイラン溶液に加え、約10分間手動で攪拌し、この混合物がゲル化するまで約2時間放置した。生成したゲルを蒸留水400mlの中に入れ、膨潤するまで一夜放置した。膨潤したゲルを炉紙をつけたプフナーロートの中に入れ、減圧用枝付フラスコにつないだ。ロート中のゲルは常時一定に機械的に攪拌し、洗液が中性になるまで吸引しながら大量の蒸留水で洗浄した。高度に膨潤、分散している小さな粒子からなるハイランゲル約2000mlが得られた。ゲル中のポリマー濃度は、0.05%であった。上記実施例で用いた圧縮装置中で圧縮度約3で圧縮し、圧縮ゲル中のハイラン濃度は0.16%であった。2つのゲルの流動性は、次の表で比較した。

#### 【0056】

【表6】

0.1%濃度であって出発原料ゲルを食塩水で希釈し、他は、0.5%より高濃度であり、実施例5に記載の装置で窒素ガスで圧縮して得られた。ゲルの流動性を次表で示す。

#### 【0058】

【表7】

表7 濃度の異なるハイランゲルの流動性の比較

5 Hzにおける動的特性			緩和特性			
ゲル 濃度 %	$G'$ , Pa	$G''$ , Pa	$\frac{G'}{G''}$	0.06s, Pa における G	5.6s, Pa における G	$\frac{G}{G 0.06\%}$
0.10	24	6	4.0	20	16	80
0.50	74	15	4.9	60	28	47
0.54	103	20	5.2	123	62	50
1.56	289	21	13.8	264	204	77
3.12	1730	301	5.7	1930	1340	69

【0059】この表に記載のデータは、ハイランゲルの弾性（G）がゲル濃度に強く依存していることを示す。

#### 実施例9

この実施例は、圧縮後、再構成されたハイランゲルの流動性を示す。ハイラン繊維は、実施例1に記載のように製造され、ハイランゲルを得るのに用いられる。ゲル中のハイラン濃度は、0.46%であった。このゲルは、実施例5に記載のように種々の時間で圧縮され、2つのゲル、ハイラン濃度が各0.62%、0.92%が製造された。両方のゲルを、計算量の0.15M食塩水で再構成し、この再構成した2つのゲル試料は、各ハイラン濃度が0.43%及び0.47%であり、これは原ゲルの濃度に非常によく近似している。5種のゲルの流動性を測定した（表8）。さらに、ゲルから除去される溶媒

の速度は次のように測定された。ゲル約2gをセントリコン<sup>®</sup>10微量濃縮管（Amicon, Grace 社）に入れ、遠心分離機（GLC-4、Sorvall<sup>®</sup> 装置、DuPont）、2,000rpmで回転した。時間間隔を予め決めて除去した食塩水量は、原重量に対する%として測定した。時間対食塩損失量のプロットは、各試料について0.99~1.00の相関係数の指数関数曲線となる（図2）。

ハイランゲル試料から食塩水除去の速度は次式：

$$G = B t$$

（式中、Gは食塩水損失量%、tは時間、BとAは定数。）により示される。BとAの値は表8に示されている。

【0060】

【表8】

表 8

試料名	ゲル中ハイラン 濃度%	流動性 (5H 2 における動的性質)			式 $G = B t^a$ からの定数	
		$G'$ , Pa	$G''$ , Pa	$G' / G''$	B	a
出発ゲル	0.46	70	12	5.8	16.1	0.48
再構成ゲル I	0.43	59	13	5.3	16.4	0.49
再構成ゲル II	0.47	73	15	4.9	16.0	0.49
圧縮ゲル I	0.62	120	22	5.5	13.3	0.50
圧縮ゲル II	0.92	145	27	5.4	11.0	0.50

【0061】記載のデータは、再構成されたゲルが、原平衡ゲルと本質的に同一であり、遠心分離による溶媒除去の速度で表わされるポリマー-溶媒間の相互作用が同一及び流動性が同じであることにより特徴付けられることを示す。速度式における定数は、大部分ゲルポリマーの性質、溶媒、遠心分離のパラメータ、及び温度等に依存し、これら2つの定数間の差は、係数 (Preexponential factor) B がゲル濃度に依存するのに対し、指数 a は与えられたゲル及び遠心分離の条件と同一である。

【0062】実施例10

この実施例は、あるハイラン混合ゲルスラリーの粘弾性\*

20 \*を説明する。ハイラン繊維を実施例1に記載のように製造した。ハイランゲルを、実施例2に記載のようにハイラン繊維をビニルスルホンで架橋して製造した。ゲルを実施例5に記載のように圧縮したゲル濃度が1.5%になる程度まで圧縮した。このゲルは、同じハイラン繊維から製造し、2及び5mg/mlの濃度にした2つのハイラン-食塩水溶液と食塩水とを1:1の比に混合して製造した。混合物の流動性は、次表に示される。

【0063】

【表9】

表9 圧縮後のハイランゲルの流動性の比較

試料名	5 Hz における動的特性			緩和特性		
	$G'$ , Pa	$G''$ , Pa	$G' / G''$	$G$ 0.06s, Pa	$G$ 5.6s, Pa	$G_{5.6}$ G 0.06%
1 ゲル-食塩混合物 1:1	157	22	7.1	207	143	69
2 ゲル-ハイラン0.2%混合物 1:1	178	17	10.4	225	151	67
3 ゲル-ハイラン0.5%混合物 1:1	241	27	9.1	341	242	71

【0064】表に記載のデータは、ゲル-流体混合物の 50 流動相中の可溶性ポリマー濃度の増加が、粘弾性を増加

する結果となることを示す。

#### 実施例 11

この実施例は、ハイランゲルスラリーにハイラン溶液の添加に原料の注射可能性の効果を説明する。

【0065】ハイラン繊維は、上記に記載のように製造され、ビニルスルホンで架橋することによるハイランゲルの製造に用いられる。ゲル中のハイラン濃度は、0.54%であることが見出された。ハイラン繊維は、1%ハイラン-食塩水溶液にも用いられた。ハイランゲルと少量のハイラン溶液のいくつかの混合物を次の方法で製造した；計算量のハイラン溶液をゲルに加え、混合物をガラス棒で約10分間攪拌し、ついで24時間放置した。この工程をもう一度繰り返して行い、25-1/2ゲージ針付注射器からの排出の容易さで試料を評価した。1%ハイラン溶液の次の量をゲルに加えた；1, 2, 4及び10%。ゲルにポリマー溶液の少量でも加えることは、混合物の注射の可能性を実質的に改善した。その混合物は、全ての場合同速度で混合物を排出するように、注射器のピストン押出機に加える力の程度を人により主観的に評価した。最良の注射可能性は、ハイラン溶液を10%含有する混合物でみられた。

【0066】ストレプトコッカス ズーエピデミクス (Streptococcus Zoepidemicus) (Sigma Chemical 社)から微生物学的に産出されたヒアルロナンの0.15M塩化ナトリウム水溶液が、粘弾性混合ゲルスラリーを生成するためにハイラン溶液の代りに用いられる時、本質的には同一の結果が得られた。

#### 実施例 12

この実施例は、ゲルの化学的性質が圧縮率及び流動性に及ぼす効果を示す。

【0067】ハイラン繊維を実施例1に従って製造し、及び実施例1及び米国特許第4, 582, 865号の1\*

表10 ハイラン及びCMCゲルの圧縮率と流動性

試 料 名	ゲル中のポリマー濃度 %	除去された食塩水重量 圧縮 %	圧 縮 し た ゲ ル の 流 動 性					
			5 Hz での 動的 特性			緩和 特 性		
			G', Pa	G'', Pa	$\frac{G'}{G''}$	0.06s, Pa kPa	5.6s, Pa kPa	$\frac{G(5.6s)}{G(0.06s)}$
CMCゲル	0.32	76	99	37	2.7	61	31	5
CMCハイランゲル 1:1	0.38	82	156	29	5.4	128	98	77
ハイランゲル	0.48	40	185	32	5.8	179	155	87

#### 【0069】実施例 13

この実施例は、生体適合性の粘弾性混合ゲルスラリーの注射の可能性を示す。ハイラン繊維を実施例1に従って製造し、生理食塩水中1%ハイラン溶液の製造に用いた。ハイランゲルは、実施例2に従って繊維をビニルスルホンで架橋して製造した。ゲル中のポリマー濃度は、0.53%であった。ハイラン溶液とハイランゲルを

\*0-13に記載の一般法に従ってビニルスルホンで架橋したカルボキシビニルセルロース (CMC) とハイランの混合ゲル及びハイランゲルを得るのに用いられる。Hercules, 9HYFからカルボキシメチルセルロースが用いられた。ゲルを生成する方法は次の通りであった：出発原料 (ハイラン繊維、CMC、またはハイランとCMCの1:1混合物) が最終反応混合物中3%ポリマー濃度に相当する量となり水に溶解して24時間機械的に攪拌した。ポリマー溶液に1N水酸化ナトリウム水溶液を最終混合物のアルカリ濃度が0.1Nになる量を加えた。この溶液を30分間攪拌し、ビニルスルホン対最終混合物中の全ポリマーの重量比が4.5~1になる量のビニルスルホンを溶液に加えた。このビニルスルホン溶液を約10分間攪拌し、ついで反応混合物を1時間放置した。生成したゲル (最終容量約50cc) を小片にカットし、過剰の食塩水 (500ml) の中に入れ、16時間膨潤させた。食塩水による洗浄を4回以上くり返して行い、高度に膨潤したゲルを減圧下プフナーロートに押圧してゲルスラリーに変換させた。ハイラン試料中ポリマー濃度を上記の方法で測定し、CMC及び混合ハイラン-CMCゲルには、重量法を用いた。この方法に従って、小数点以下第4位まで秤量したゲル試料を透析液を3回代えて蒸留水に対して透析し、保持液 (retentate) を凍結乾燥し、ついで50°Cで12時間真空乾燥して秤量した。ポリマー含有量は、ゲル重量に対するポリマー重量比を%で計算した。ゲル試料を実施例5に記載の装置を16時間28psiの窒素ガスで圧縮した。除去した食塩水を各試料毎に、圧縮の前後で流動性と同等に測定した。このデータを次表 (表10) に示す。

#### 【0068】

#### 【表10】

1:4の比に混合し、ガラス棒 (手動) で15分間攪拌し、ついで混合物を数日間時々攪拌しながら放置した。このハイランゲル溶液粘弾性スラリーを、モルモットの皮内組織中への注射の容易さにより純ハイランゲルスラリーと比較した。全ポリマー含有量は、純ゲルスラリーに比して混合ゲルスラリーの方が高いが、純ゲルに比して混合物の方が組織への注射は非常に容易であった。そ

の結果は、ゲル粒子が、小さな口径の針の円筒を通して、空素の濃い組織へ入っていくのにハイラン溶液が潤滑油の作用をすることを示している。

#### 【0070】実施例14

この実施例は、粘弾性ハイランゲルスラリー中に蛋白質の拡散を示す。ハイラン純ゲルスラリー及び混合ゲル溶液スラリーを上記の実施例に記載のように製造した。これら2つの粘弾性ゲルスラリーを通して2つの蛋白質、フィブリノーゲン及びアルブミンの拡散は、次の方法により評価された。

【0071】各実験に対しては試料3mlを使い捨て注射器(3ml)中へ充填した。この注射器は、1端を閉じ、垂直位置に取付ける。放射性標識をつけた\*

\*  $[^{125}\text{I}]$ -フィブリノーゲン及び  $[^{125}\text{I}]$ -アルブミン(New England Nuclear 社製)を用いた。濃度が約  $2.5\text{mg/ml}$  (各蛋白質試料について約  $0.5 \times 10^5\text{dpm}$ ) の放射性標識をつけた蛋白質-生理食塩水溶液約  $0.2\text{ml}$  を各注射器の先端に入れ、2つの試料を夫々3時間と24時間室温に保持した。各  $0.5\text{ml}$  容量の5つのフラクションを各注射器から取り出し、注意深く試験管に移して放射能を測定した。  $[^{125}\text{I}]$  濃度を測定するのに Packard 自動  $\gamma$  線分光器を用いた。その結果を次表11及び図3及び図4に示す。

#### 【0072】

#### 【表11】

表11 フィブリノーゲン及びアルブミンのハイランゲル及びゲル溶液混合スラリーへの拡散の比較データ

フラクション 番号	フィブリノーゲン拡散、フラクション含量 全体の %				アルブミン拡散、フラクション 含量、全体の %	
	3時間		24時間		ハイランゲル	ハイランゲル - 溶液混合物
	ハイランゲル	ハイランゲル- 溶液混合物	ハイランゲル	ハイランゲル 溶液混合物		
1 (最初)	69.5	88.0	57.0	71.5	51.0	84.0
2	20.5	7.5	26.0	14.0	36.0	6.0
3	6.0	2.5	10.0	7.0	10.0	5.0
4	2.0	1.0	3.5	4.5	1.0	3.0
5 (最後)	3.0	2.0	4.0	3.0	<1.0	<1.0

【0073】このデータは、ゲルとの混合物の中に可溶性ハイランポリマーの導入が、2つの蛋白質(フィブリノーゲン及びアルブミン)の粘弾性ゲルスラリーの拡散速度を減少することを示す。混合ゲルスラリーの場合には、大部分の蛋白質は先頭のフラクションの中に滞り、純ゲルスラリーへの場合には、この量は実質的に減少する。しかし、2つの生成物間の差は、先頭から第2のフラクションの中に、ゲル-溶液混合スラリーに比して純ゲルスラリーの場合に2~6倍量の蛋白質が浸透することを強調している。

#### 【0074】実施例15

この実施例は、フィブリノーゲンの拡散に粘弾性物質の組成物の影響を示す。  $[^{125}\text{I}]$ -フィブリノーゲン拡散を1%ハイラン溶液、ハイランゲルと生理食塩水の4:1混合スラリー、純ゲルスラリー及び混合ハイランゲルスラリーについて測定すること以外は、上記の実施例の実験を繰返して行い、フィブリノーゲン含有量を初めの2つのフラクションについてのみ測定した。その結果を次表12に示す。

#### 【0075】

#### 【表12】

表12 【1161】-フィブリノーゲンのハイラン溶液及びハイランゲルスラリーへの拡散の比較データ

試料名	フィブリノーゲン含有量(3時間拡散)、全体の%		
	フラクシオン1(最初)、%	フラクシオン2、%	フラクシオン2、%と フラクシオン1、%の比
ハイランゲルー食塩水混合スラリー	54	36	0.67
ハイランゲルスラリー	67	30	0.45
1%ハイラン溶液	70	27	0.39
ハイランゲルー溶液混合スラリー	84	15	0.18

【0076】第2及び第1のフラクシオンのフィブリノーゲン含有量の比は、フィブリノーゲンの試料への相対拡散速度を特徴付ける、比が小さくなればなる程拡散速度は小さくなる。従って、測定した試料に対する相対的拡散係数の順位は、ゲルー食塩水混合物>ゲル>ハイラン溶液>ゲルー溶液混合物である。

#### 実施例16

この実施例は、水に不溶の液体の浸透耐性に対して粘弾性ゲルスラリーの組成物の効果を示す。

【0077】次の資料は、水に不溶の色素溶液を試料中に遠心力下で移動させて測定した：ハイランゲルスラリー及び混合ハイランゲルーハイラン溶液スラリー（実施例14で用いたのと同じ試料）、混合ハイランゲルー食塩水スラリー（4：1のゲルー食塩水比）、及び生理食塩水。各試料3mlをガラス製試験管に入れ、0.5%スーダンブラック色素のクロロホルム溶液0.2mlを載置した。試験管は、20×g/30秒で遠心分離にかけると、試験管の高さに沿って色素の分布がみられ、写真に記録した。食塩水を含む試験管では、全色素溶液は、試験管の底部に見出される。他の3本の試験管では、色素溶液は一部底部に集まっているが、一部は試料の先端から底部まで分散していた。試料全体に分散する色素溶液の量が増え：かつ、底部に集まる量が減るにつれ、遠心力の下で試料の中に浸透する色素溶液に対する試料の耐性が大きくなる。観察された試料の相対的耐性の順位は、ハイランゲルー溶液スラリー>ハイランゲルスラリー>ハイランゲルー生理食塩水スラリー>食塩水である。

#### 【0078】実施例17

この実施例は、水溶性色素の種々の粘弾性ハイランゲルスラリーへの拡散を示す。ハイランゲルスラリーを実施例2に従って製造した。ゲル中のポリマー濃度は0.5

3%であった。このゲルを生理食塩水の種々の量で希釈して4種以上のゲルスラリーを製造し、2種以上のゲルスラリーについて、実施例5に記載の原ゲルスラリーを圧縮してより高濃度にした。

【0079】すなわち、ハイランゲルスラリーの7つの試料はポリマー濃度が0.24~0.75%で得られた。水溶性色素、エオジン（Aldrich Chemical社）のハイランゲルスラリーへの拡散は、次の方法で行った。目盛りのついた0.9cc容量で末端を切断したプラスチック製1ccピペットをゲルスラリーで満たし、予め気泡を遠心分離で除去した。垂直位に取付けた各管の底部をゴム栓で塞ぎ、0.15M塩化ナトリウム中1%エオジン溶液をタイゴンチューブをつけたビューレットからゲル表面と色素溶液間に空隙がないように各管の上端に入れる。ゲル表面から色素溶液の上端までは4.5cmであった。色素の拡散は、室温（約20°C）で93時間かけて行われた。ついで、色素を満たしたチューブを分離し、各管の内容量を各0.3ccずつ3つの等量、第1（底部）、第2（中央部）、及び第3（先端）に分離した。各部を0.15M食塩水で10回希釈し、色素濃度を平衡にして一夜保持し、515nmで吸光度を測定した。ゲルスラリーの中に拡散する色素量（吸光度に比例する）は、3部の各々及び全試料のゲル濃度に直線的に依存することが見出された。後者の量（全試料の量）は、上記3部の吸光度の和として計算された。中央部（0.92）と全試料（0.93）には最良の相関係がみられ、その全試料の場合は、中央部の高さを用いる最良の方法で拡散速度を示すことができるという示唆により説明されるであろう。ハイランゲルスラリー中に浸透する色素量のゲル中ポリマー濃度への依存度は、図5及び図6に示される。

#### 【0080】実施例18



この実施例は水溶性色素の種々の組成のハイラン溶液及びハイランゲルスラリーへの拡散を示す。水溶性色素、エオジンのゲルポリマー溶液混合スラリーへの拡散を測定するために、次の試料を製造した。ハイランゲルスラリー（0.5%濃度）及び0.15M食塩水中、1%ハイラン溶液を実施例1のように製造した。ポリマー濃度が1.5%及び1.9%に圧縮したハイランゲルスラリーを実施例5に従って原ゲルスラリーを圧縮して製造した。1.9%濃度に圧縮したゲルスラリーを、1%ハイラン溶液を食塩水で希釈して製造した0.2%ハイラン溶液と1:2の比に混合した。0.15%食塩水中0.1%エオジン溶液のハイラン試料への拡散は、次の例外を除いて上記実施例に記載のように測定した。原料の表面から溶液の先端までは50cmであった。拡散は18日間かけて行われた。各ビペットの容量、0.9ccを各0.1ccずつ9部に分けた。各アリコートは、蒸留水0.9ccと混合して、色素濃度を平衡させるために24時間保持し、515mmで吸光度を測定した。試\*

\* 料の中に拡散した色素量を比例する吸光度は、拡散の距離に比例するアリコート数に指数関数的に依存した。換言すれば、色素の粘弾性ハイラン媒体（溶液、ゲル、ゲル-溶液混合物）への拡散は、式：

$$Md = B \times 10^x$$

式中、Md=拡散した色素量、

x=拡散距離

で表される。

【0081】Bとaは、試料を特徴付ける定数及び拡散のパラメーター（色素濃度、色素溶液の先端距離、温度）。この依存性は、良好な係数（0.98~0.99）のついた片対数座標による直線で示され、図7に試料の1つについて示す。試料中に浸透する全色素量は、全アリコートの吸光度の和によって測定した。5つのテストした試料の累積吸光度は次表13で示す。

【0082】

【表13】

表13 エオジンの粘弾性ハイラン生成物への拡散

試料番号	試料名	累積ポリマー濃度OD%		
		可溶性	不溶性	全
1	ハイラン溶液	1.0	—	1.0
2	ハイランゲル	—	0.5	0.5
3	食塩水と1:1に混合した圧縮ゲル (1.5%)	—	0.75	0.75
4	0.5%ハイランと1:1に混合した圧縮ゲル (1.5%)	0.25	0.75	1.0
5	0.2%ハイランと1:2に混合した圧縮ゲル (1.9%)	0.13	0.84	0.77

【0083】これらのデータから次の結論が出された：

- ・ハイランへの拡散速度は、通常のゲルに対するより1%ハイランの方が小さいように見える（試料1及び2）。
- ・ゲル中への拡散は、その濃度に依存する；拡散速度は、ゲル速度の増加により減少する（試料2及び3）。
- ・ゲル液体混合物への拡散速度は、可溶性成分及び不溶性成分の比の変化によりコントロールされる（試料5）。

【0084】実施例19

この実施例は、粘弾性ハイランゲル混合スラリーの生体適合性を説明する。粘弾性ハイランゲル混合スラリーを実施例1に記載のように製造した。ハイランゲルスラ

リーは1:4であった。生体適合性を、血小板活性化試験により試験管内で測定した。血小板活性化反応（放出反応）は、血液凝固において重要な役割を果し、医療生物材料に関連する時、血栓形成、遠位塞栓症及び閉塞性血栓症のようなご好ましくない結果となる。高度に生体適合性のものは、低い血小板反応性と相関関係にある。試験は次のように行われた。血小板に富む血漿（PRP）を、新鮮なクエン酸塩添加人血から静脈穿刺して得た血小板を $^{14}C$ -セロトニンで標識して、その結果、 $^{14}C$ -セロトニンの90%以上を血小板から取り出した。分析には、 $^{14}C$ -PRPの0.005~0.20ml/mlの範囲で粘弾性ゲルスラリーの種々の量を試験管の中の血漿に直接加えた。3

33

7°Cで90分間インキュベートした後、各試験管から0.2mlを分離し、マイクロ遠心分離管に移し9,000×g/分で遠心分離した。上澄液各50μlを除去し、 $^{14}\text{C}$ -セロトニンをβ線シンチレーションで測定した。トロンビン感応 $^{14}\text{C}$ セロトニンの放出を+のコントロール(100%遊離)として用いた。全試料の放出した%をトロンビン放出に基づいて測定した。放\*

表14 粘弾性ハイランゲルスラリーの血小板活性試験による生体適合性

加えられた試料量 ( $^{14}\text{C}$ )-PRP ml/ml	( $^{14}\text{C}$ )セロトニン放出、コントロール%, 3試料の平均値
0.005	0 + / - 0
0.013	0 + / - 0
0.025	0 + / - 0
0.050	0 + / - 0
0.100	0.82 + / - 0.05

【0086】すなわち、表に記載された結果は、この発明による粘弾性ハイランゲル混合スラリーが試験管内では極めて高い生体適合性を有することを示している。

#### 実施例20

この実施例は、粘弾性ハイランゲル混合スラリーの生体適合性を示す。上記の実施例に用いられたのと同じ粘弾性ハイランゲル混合スラリーを次の方法で生体内で評価した。ニュージーランドの白色ウサギ(雄、特定の発熱性物質を含まない)をケタミン/ロンパンで麻酔し、膝の毛をそり、ついでヨードとエタノールで清拭した。粘弾性ハイランゲルスラリー0.3mlを、膝の関節内に21ゲージ針を用いた注射器で注入した。ウサギは注射後1~4週間で屠殺し、膝を解剖し、各膝を肉眼で観察した。1週間後、注射したハイランゲル混合物は、関節、軟骨及び滑膜の中に存在し、正常であった。4週間後も同様に関節液、滑膜または軟骨の中に肉眼で病変はみられなかった。コントロールの生理食塩水注射からの結果も同様であった。これらのことは、生体内で粘弾性ハイランゲル混合スラリーの極めて高い生体適合性を示す。

#### 【0087】実施例21

この実施例は、粘弾性ハイランゲルスラリーが表面に癒着して細胞運動に及ぼす効果を説明する。正常な軟骨の線維芽細胞を融合するまで、 $[\text{H}]$ -チミジン(20~25mCi/フラスコ)の存在下、T75cm<sup>2</sup>のフラスコ中で培養した。ついでこのように標識した細胞を

34

\*出%を計算する前に、全試料から(ハイランゲルスラリーを加えない場合の)放出のバックグラウンドを差引いた(これをベースラインとした)。10%以下の放出は重要でないと考えられる。その結果を表14に示す。

【0085】

【表14】

トリプシン処理し、洗浄し及び計数した。ハイランゲルスラリーを実施例2に従ってビニルスルホンで架橋したハイラン繊維から製造した。ハイランポリマーとビニルスルホンとの比は、米国特許第4,605,691号に従って調整し、異なるポリマー濃度、0.17, 0.24, 0.35, 及び0.47重量%のゲルスラリーを製造した。0.15M塩化ナトリウム水溶液中1重量%ハイラン溶液も製造した。粘弾性混合ハイランゲルスラリーは、0.35%ゲルと等量の1%ハイラン溶液とを混合して製造した。6つの試料を最小必須培地(MEM)に対して透析し、次の方法で細胞癒着の測定に用いた。試料約0.4~0.5mlを24-ウエルRプレートの4ウエルに、ウエルの底が完全に覆われるように入れる。MEMの同量を対照として用いた。標識した細胞を、MEM中100,000~1,000,000細胞/mlの濃度に懸濁し、懸濁液を注意してウエルに加え、プレートを37°Cで24時間培養した。ついで中味をウエルから除き、そのウエルを0.15M食塩水で数回洗浄し、ウエルを0.15M食塩水で数回洗浄し、ウエルの表面に癒着した細胞を0.2M水酸化ナトリウム水溶液に溶解し、アルカリ洗液の放射能を測定した。この放射能は、直接ウエル表面に付着した細胞数に比例し、粘弾性試料による細胞癒着の阻止を測定するのに用いられる。MEMを含む対照ウエル中の細胞の癒着は、100%として計算した(阻止なし)。結果を表15に示す。

【0088】

【表15】

表15 固体表面への細胞付着のハイランゲルスラリーによる阻止

試 料 名	ポリマー濃度重量%	細胞付着の阻止%
対照	—	0
ハイランゲルスラリー	0.17	33
ハイランゲルスラリー	0.24	62
ハイランゲルスラリー	0.35	70
ハイランゲルスラリー	0.47	87
ハイランゲル溶液	1.00	94
ハイランゲル溶液混合物1:1	0.67	93

【0089】表15に示される結果は、細胞運動及び固体表面への癒着が、ハイランゲルスラリー中のポリマー濃度の調整により、及びハイランゲルスラリーとハイランゲル溶液とを混合して粘弾性ハイランゲル混合スラリーの生成により制御されることを示す。勿論、この発明の思想及び範囲から離脱することなく、変法や修正法がなされる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】2つの粘弾性ハイランゲルスラリーの圧縮速度を示すグラフである（実施例6）。

【図2】遠心力下で、粘弾性の異なるハイランゲルスラリーから溶媒除去の速度を示すグラフである（実施例9）。

【図3】粘弾性の異なるハイランゲルスラリーへ、フィ

ブリノーゲンの拡散を示すグラフである（実施例14）。

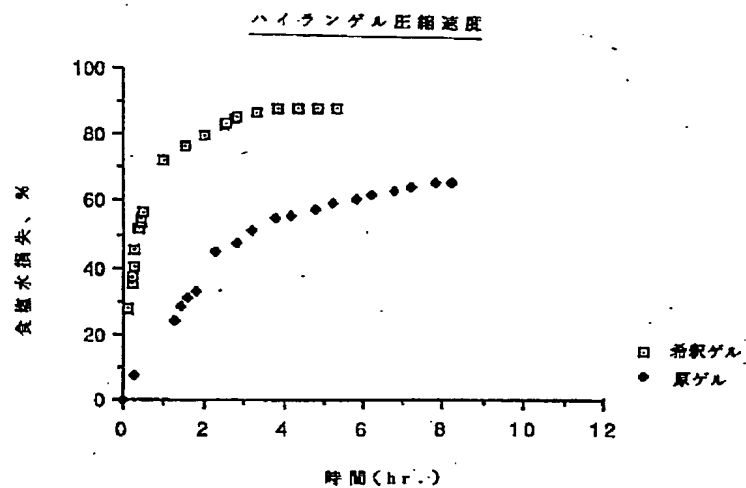
【図4】粘弾性の異なるハイランゲルスラリーへ、アルブミンの拡散を示すグラフである（実施例14）。

【図5】種々の濃度による粘弾性ハイランゲルスラリーの全量に拡散した水溶性染料、エオジンの量的依存性を示すグラフである（実施例7）。

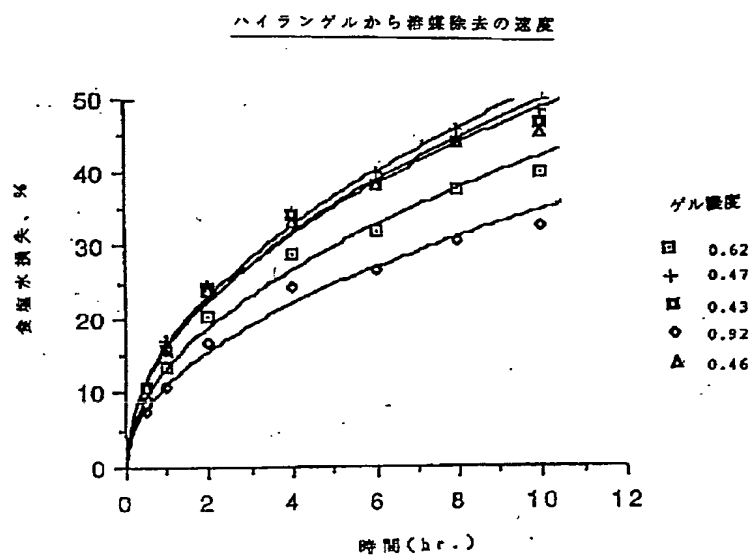
【図6】種々の濃度による粘弾性ハイランゲルスラリーの半量に拡散した水溶性染料、エオジンの量的依存性を示すグラフである（実施例7）。

【図7】粘弾性混合ハイランゲルスラリー中にエオジンの拡散を示すグラフである。（拡散距離対拡散色素の量）（実施例18）。

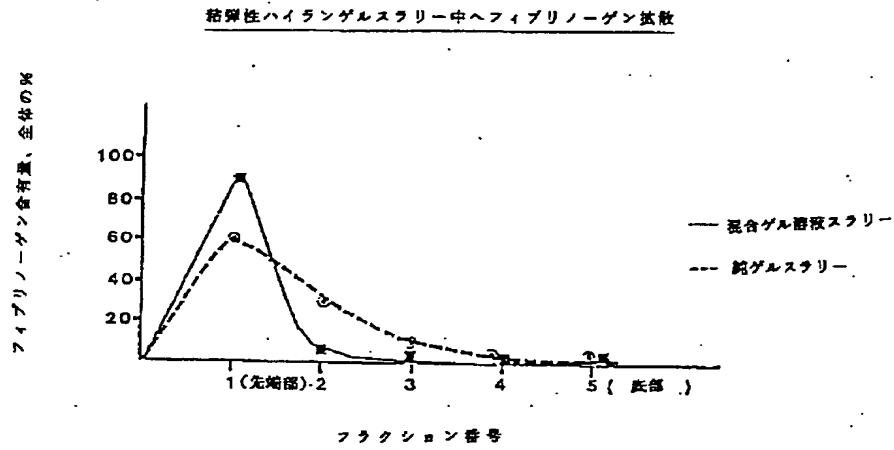
【図1】



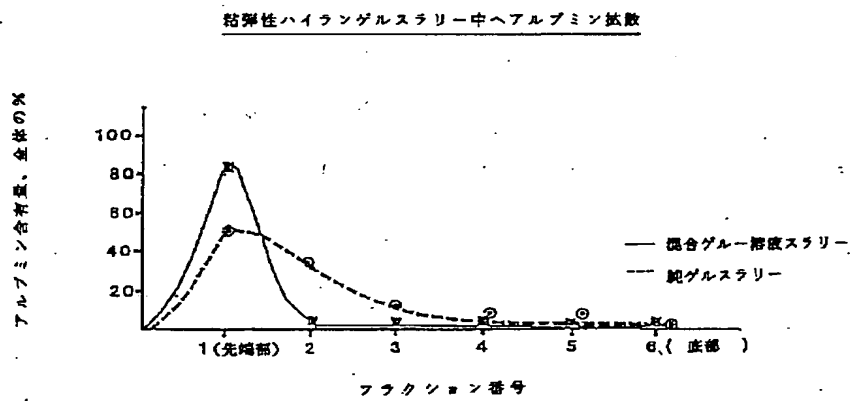
【図2】



【図3】

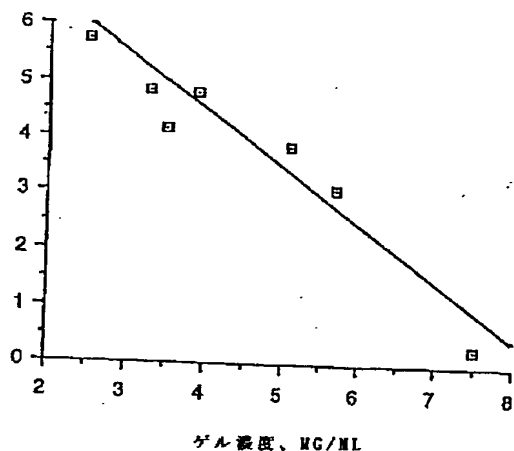


【図4】



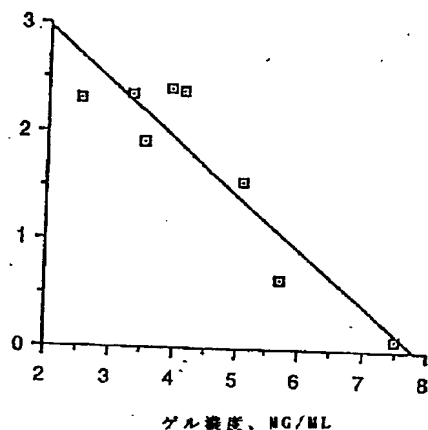
【図5】

粘弾性ハイランゲルスラリー中ヘエオジンの拡散(全容積)



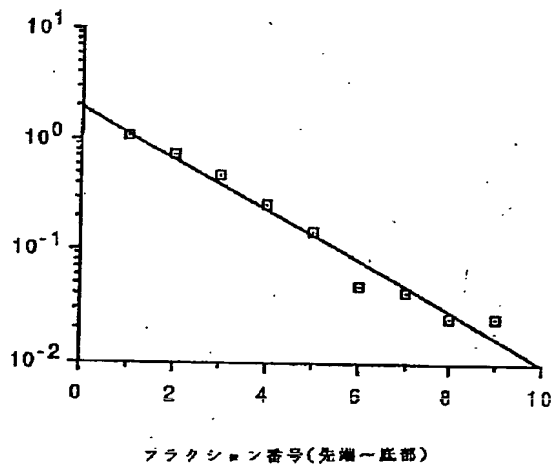
【図6】

粘弾性ハイランゲルスラリー中ヘエオジンの拡散(中部)



【図7】

粘弾性ハイランゲルスラリー中ヘエオジン拡散(実施例18、試料5)



フロントページの続き

(72)発明者 アンドレ エー. バラーズ  
 アメリカ合衆国, 07024 ニュージャージー  
 州, フォート リー, オールド パリセ  
 イド 200

(72)発明者 ナンシー イー. ラーセン  
 アメリカ合衆国, 10930 ニューヨーク州,  
 ハイランド ミルズ, ロゼローン ロード  
 104

(72)発明者 アデルヤ レツシユシナー  
アメリカ合衆国, 07626 ニュージャージー  
州, クレスキル, デルマール アベニユ  
ー 101

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**